



ANEXOS A LA SOLICITUD DE DEPÓSITO DE LA  
LÍNEA CELULAR **Hz 24-7-15 CBiPS7-Sv4F-I12** EN  
EL BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES

## ANEXOS

Anexo 1: Fenotipo. Marcadores de pluripotencia

Anexo 2: Diferenciación *in vitro*

Anexo 3: Cariotipo

Anexo 4: Resultados microsatélites

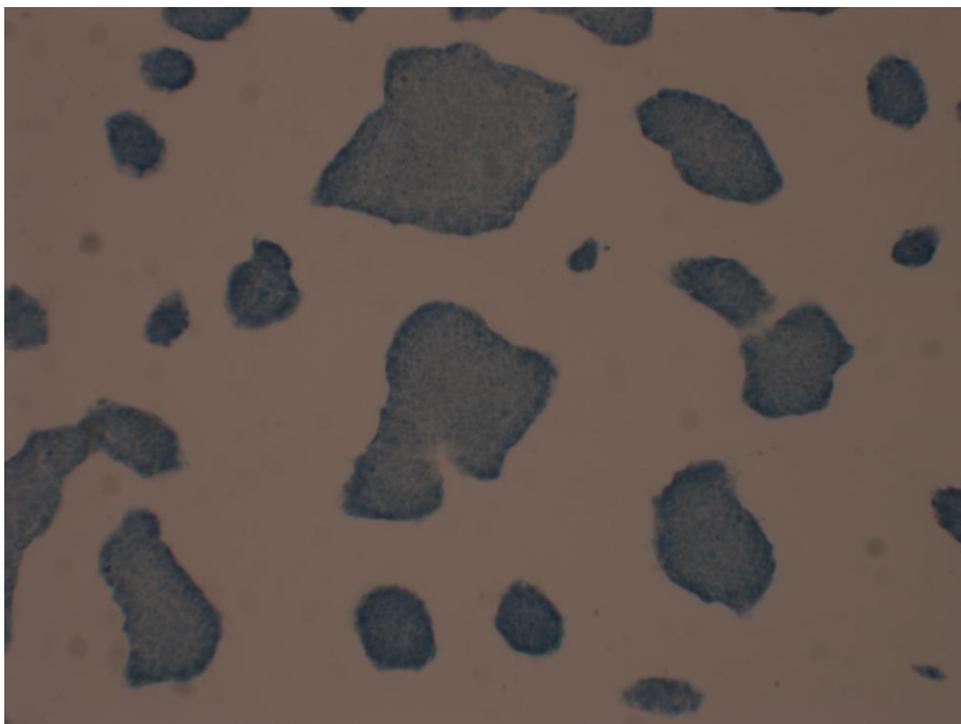
Anexo 5: Ausencia de los transgenes de reprogramación

Anexo 6: Resultado test de micoplasma

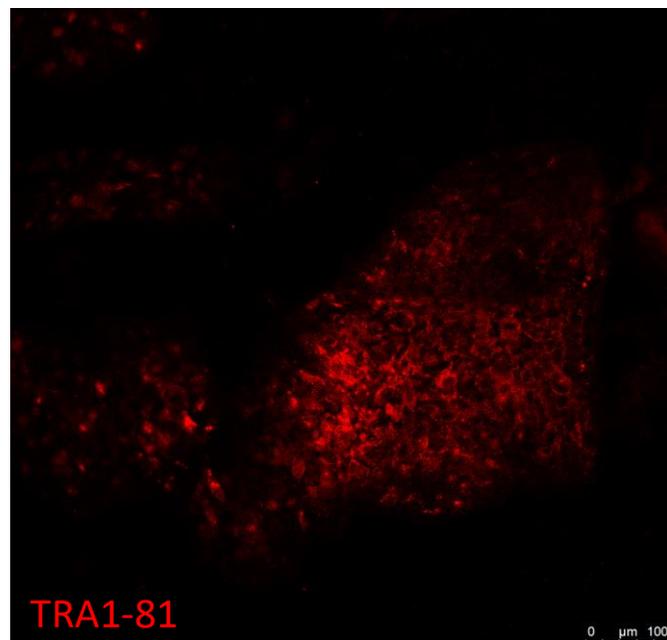
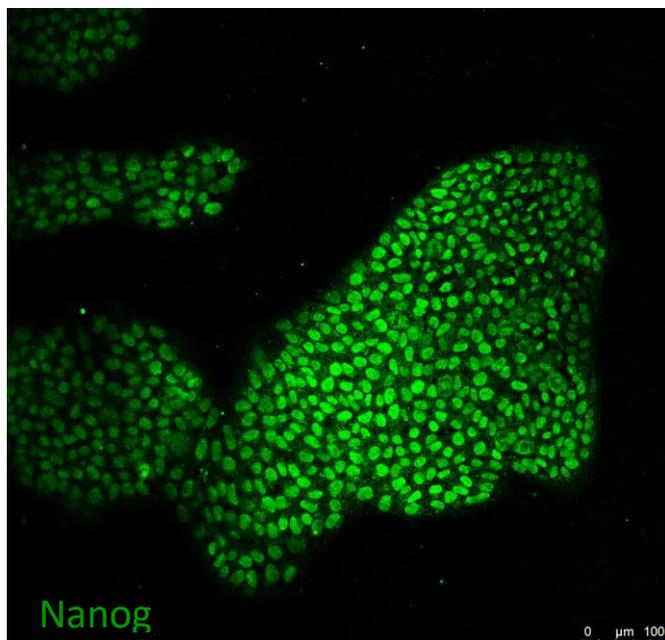


# **Anexo 1**

## **Fenotipo. Marcadores de pluripotencia**

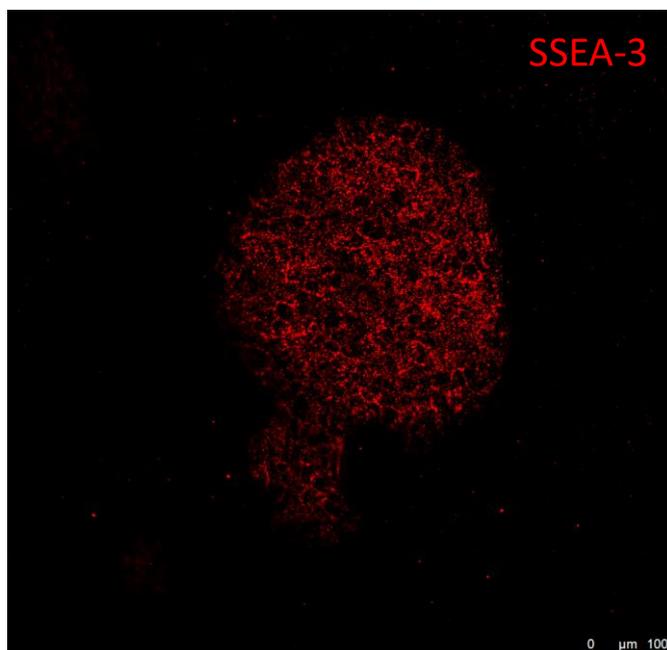
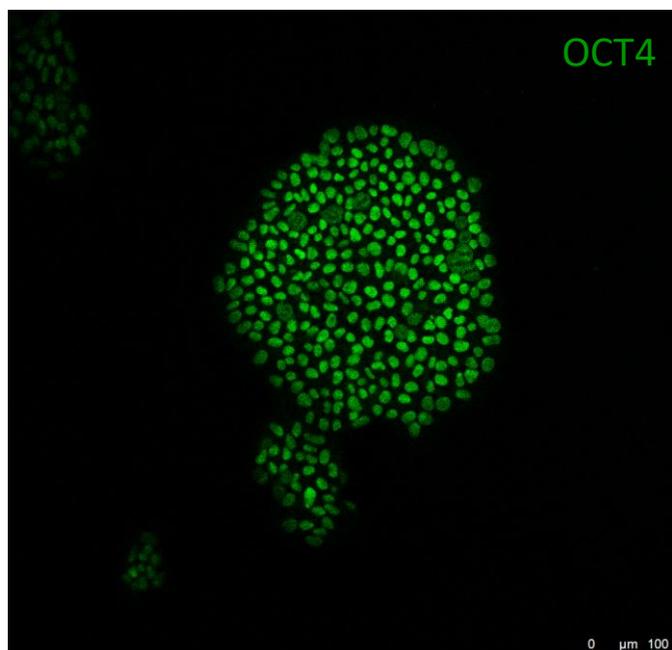


Actividad **fosfatasa alcalina** de la línea de células pluripotentes



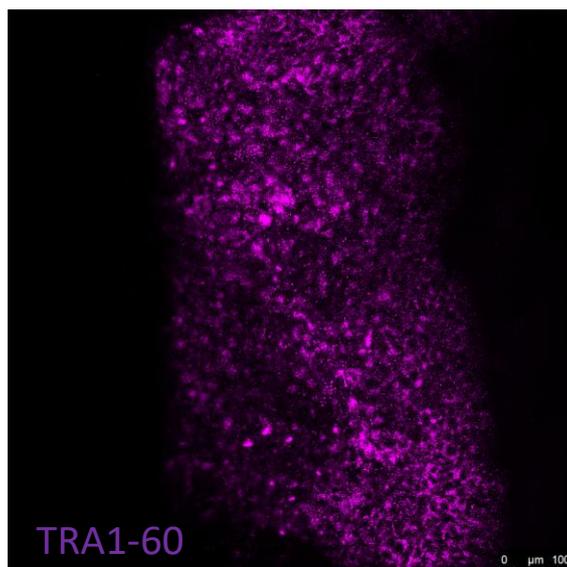
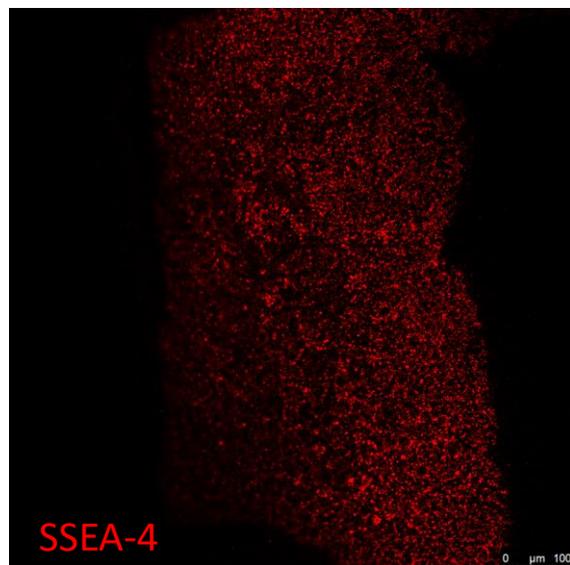
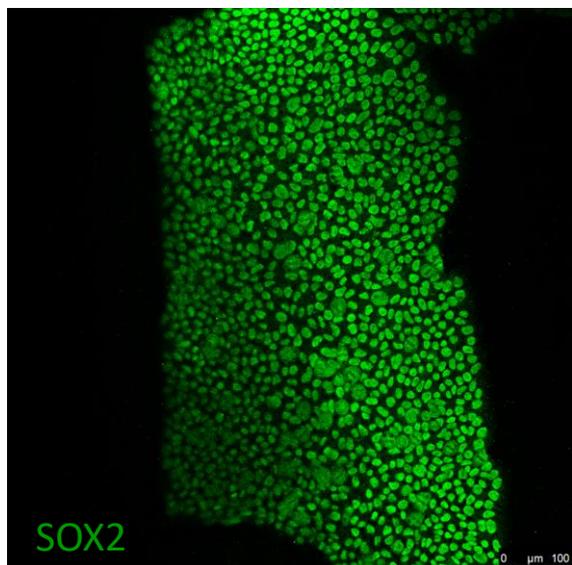
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Nanog y TRA1-81**



Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Oct-4 y SSEA-3**



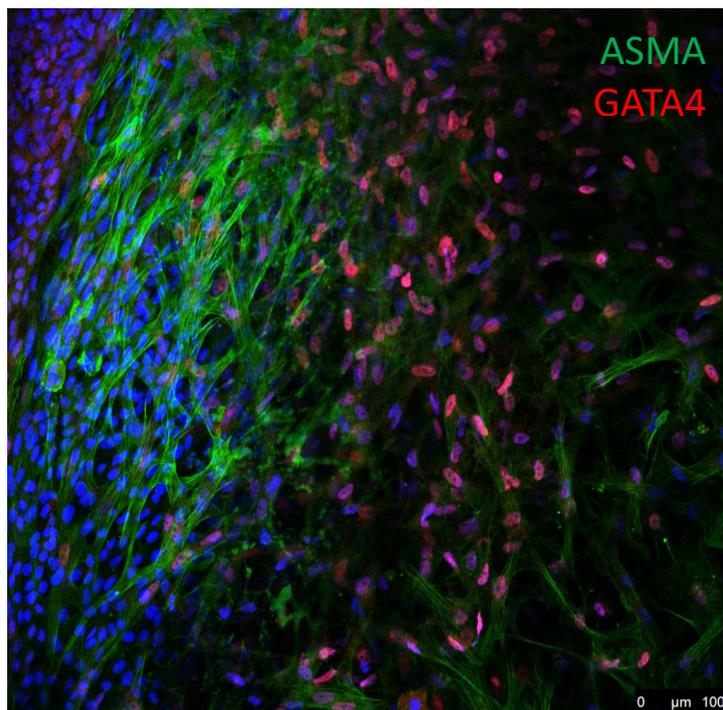
Resultado positivo por inmunocitoquímica para las proteínas de pluripotencia

**Sox-2, SSEA-4 y TRA1-60**

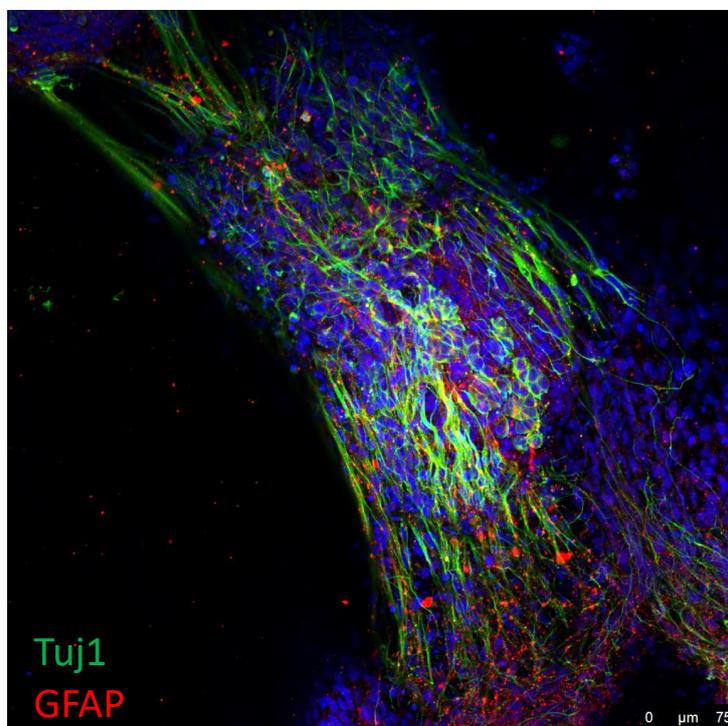


## **Anexo 2**

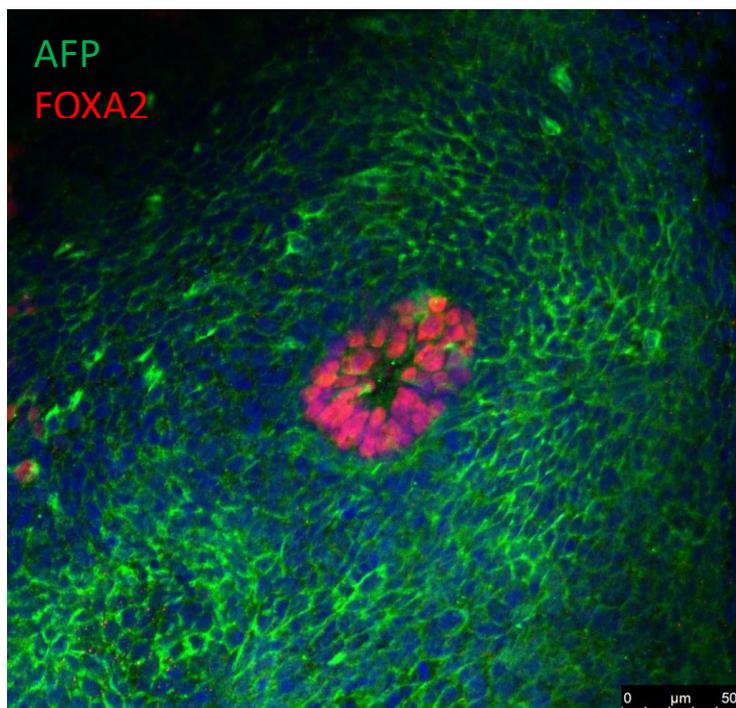
### **Diferenciación *in vitro***



Diferenciación *in vitro* a mesodermo: Células positivas para **ASMA y GATA4**



Diferenciación *in vitro* a ectodermo: Células positivas para **Tuj1 y GFAP**



Diferenciación *in vitro* a endodermo: Células positivas para **AFP** y **FOXA2**



## **Anexo 4**

### **Cariotipo**

### CYTOGENETICS STUDY

Case name: 13331150

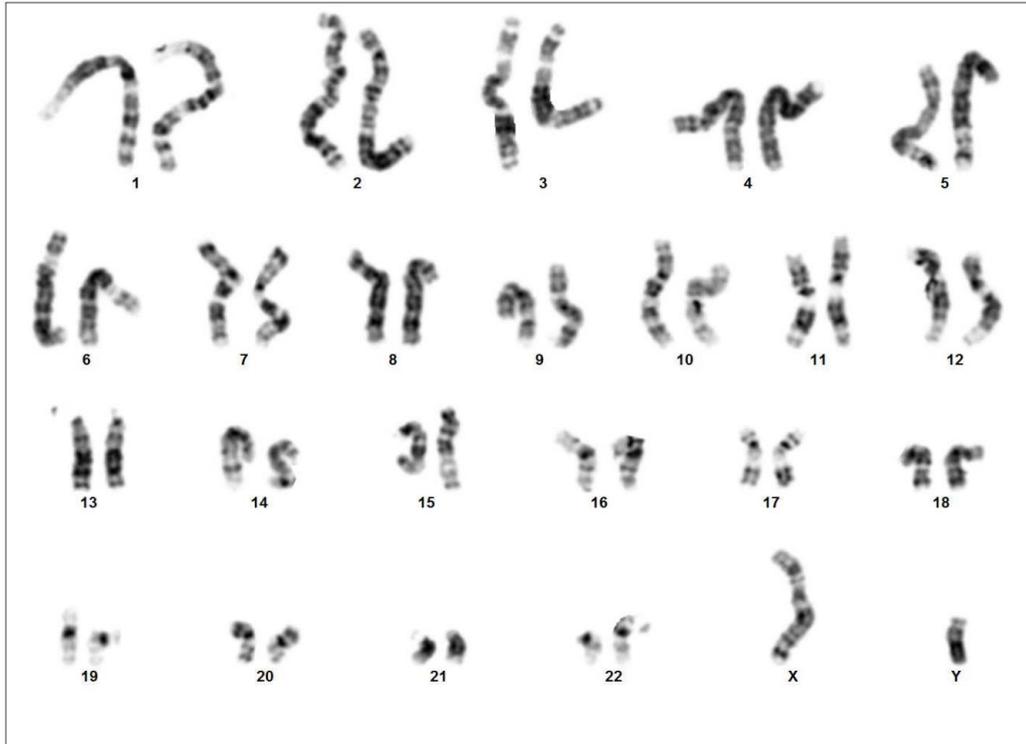
Department: Idibell

NHC: CT0328

Sample: CM

Name: Hz24-7-15CBiPS7-Sv4F-112p

Date: 12/15/2021



Case: 13331150 Slide: 1 Cell: 13F

Result: 46,XY



## **Anexo 4**

### **Resultado microsatélites**

## P-CMR[C]

### RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

| Línea celular                  | Loci STRs analizados |          |        |         |        |         |        |      |        |      |
|--------------------------------|----------------------|----------|--------|---------|--------|---------|--------|------|--------|------|
|                                | TH01                 | D21S11   | D5S818 | D13S317 | D7S820 | D16S539 | CSP1PO | AMEL | vWA    | TPOX |
| Hz 24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I12 p13 | 6; 9.3               | 28; 32.2 | 11; 13 | 11; 12  | 9; 12  | 8; 13   | 10; 11 | X; Y | 14; 16 | 8    |

Barcelona, a 15 de diciembre de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

## P-CMR[C]

### RESULTADOS:

En la siguiente tabla se indican los resultados correspondientes a las variantes alélicas para cada locus STR en la muestra analizada.

| Línea celular             | Loci STRs analizados |          |        |         |        |         |        |      |        |      |
|---------------------------|----------------------|----------|--------|---------|--------|---------|--------|------|--------|------|
|                           | TH01                 | D21S11   | D5S818 | D13S317 | D7S820 | D16S539 | CSP1PO | AMEL | vWA    | TPOX |
| CD34 24-7-15, I, 10.05.21 | 6; 9.3               | 28; 32.2 | 11; 13 | 11; 12  | 9; 12  | 8; 13   | 10; 11 | X; Y | 14; 16 | 8    |

Barcelona, a 14 de julio de 2021

Laboratorio Biología Molecular

P-CMRC

Análisis de microsatélites en la línea de hiPSC y en las células de las que procede.



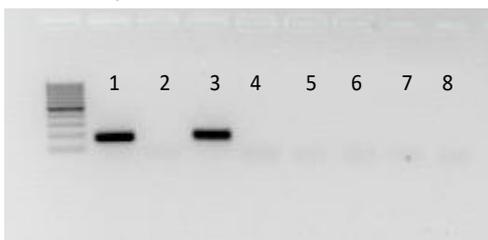
## **Anexo 5**

### **Ausencia de los transgenes de reprogramación**

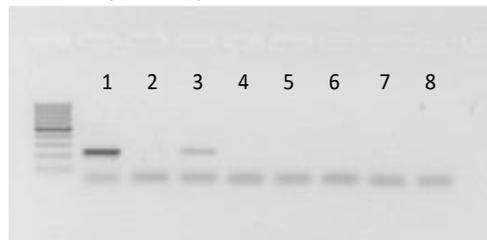
## RT-PCR SENDAI 2.1

1. Control + SENDAI 2.1
2. Hz-24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I 4, P8
3. Hz-24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I 10, P6
4. Hz-24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I 12, P7
5. Hz-24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I 13, P6
6. Rb20234-C17 p12 (NEGATIVE CONTROL EPISOMAL SAMPLE)
7. SAMPLE NO RT
8. H2O

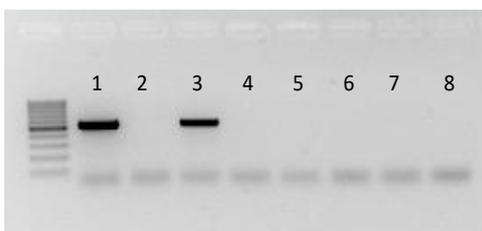
Sev (181 pb)



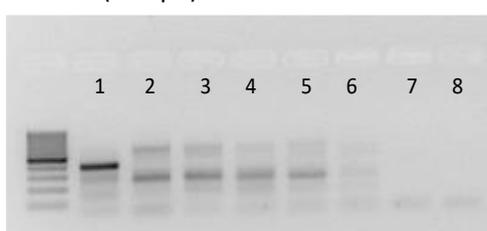
L- Myc (237 pb)



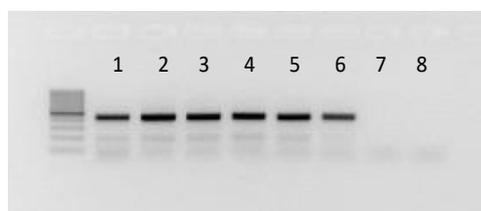
KOS (528 pb)



Klf4 (410 pb)



GAPDH



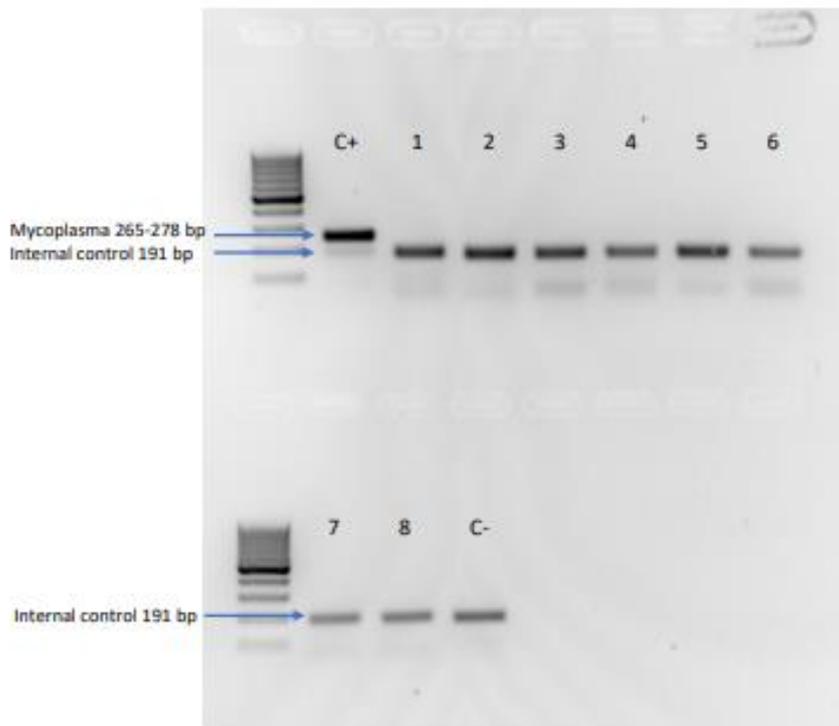
Ausencia de los transgenes de reprogramación. Análisis por RT-PCR de los niveles de expresión de los transgenes indicados. Se muestra expresión relativa a GAPDH



## **Anexo 6**

### **Resultado test de micoplasma**

**Mycoplasma test (VenorGeM Classic kit) 19/11/2021**



3. Hz 33-14-1 CBiPS6-Sv4F H6 p13
4. Hz 24-7-15 CBiPS7 Sv4F-I12 p10
5. Hz 1-8-3 CBiPS4-Sv4F-F6 p13